

Кандидат в новый вид рода *Meyerella* (Chlorellales, Chlorophyta)**Научный руководитель – Темралеева Анна Диссенгалиевна*****Кривина Елена Сергеевна****Кандидат наук*Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино,
Россия*E-mail: pepelisa@yandex.ru*

Зеленые микроводоросли рода *Meyerella* с типовым видом *M. planktonica* были описаны Fawley с соавт. в 2005 году на примере штаммов из озера Итаска (Миннесота, США). Отличительной особенностью этого рода от других членов *Chlorella*-клады, в которую он входит, является отсутствие пиреноида. В основном его представители - это свободноживущие пресноводные планктонные микроорганизмы. Однако некоторые из них могут вступать в факультативный симбиоз с инфузориями [5] или входить в состав биологических почвенных корочек [2]. Ранее предполагалось, что род *Meyerella* не является монотипным [2, 5]. Тем не менее, до сих пор не было описано ни одного нового вида. Возможно, это отчасти связано с тем, что весь цистрон 18S-ITS1-5.8S-ITS2 прочитан только для *M. planktonica* и не прочитан целиком ни для одного другого штамма *Meyerella* spp. В данной работе приводятся результаты изучения морфологии, экологии и филогении представителей нового вида *Meyerella*, выделенных из пресноводных озер (Россия).

Объектами исследования стали штаммы ACSSI 346 и ACSSI 362, изолированные из инфузорий *Pseudoblepharisma* sp. и *Holophrya* sp. оз. Прудовиков (53.5295 N, 49.5170E), а также штамм ACSSI 363, изолированный из пелагической зоны оз. Восьмерка (53.2953N, 49.2954E). Изученные штаммы характеризовались следующими морфологическими признаками: одноклеточные, с преимущественно шаровидными клетками с одним пристенным хлоропластом без пиреноида и были близки с представителями таких родов как *Edaphochloris*, *Picochlorum* и *Pseudochloris*.

Однако, по результатам филогенетического анализа фрагмента 18S-ITS1-5.8S-ITS2 исследованные штаммы принадлежали роду *Meyerella*, но представляли собой независимую от голотипа *M. planktonica* эволюционную линию. Генетические дистанции между штаммами ACSSI не превышали 0,1%, что соответствует внутривидовому уровню для членов *Chlorella*-клады. Между исследуемыми штаммами и *M. planktonica* генетическая разница составляла 2,4%, что является межвидовым уровнем. Все штаммы ACSSI имели интрон длиной 416 нуклеотидов в гене 18S рРНК в отличие от штаммов *M. planktonica*.

Также был проведен анализ вариабельных регионов V4 и V9 гена 18S рРНК, часто используемых при метабаркодинге образцов окружающей среды. В регионе V4 у штаммов ACSSI, в отличие от других штаммов *Meyerella*, также была обнаружена специфическая молекулярная подпись, которую можно рассматривать как видовую, - фрагмент последовательности с 56 по 89 п.н. GcctGccggtccgccgtttcggtgtgactggTC. В регионе V9 у всех исследованных штаммов ACSSI была обнаружена ещё одна уникальная комбинация нуклеотидов: фрагмент последовательности с 41 по 73 п.н. AaccgCgggcggtTtccgctctcggTcgccgaG. Эти «молекулярные подписи» могут быть использованы для разграничения как представителей рода *Meyerella* от других членов клады *Chlorella*, так и видов рода между собой.

При анализе вторичной структуры внутренних транскрибируемых спейсеров между исследуемыми штаммами и *M. planktonica* была найдена 1 компенсаторная замена (СВС)

в I спирали ITS1 и 1 СВС в консервативной области II спирали ITS2. Генетические различия ITS2 (с учетом вторичной структуры) между штаммами ACSSI и *M. planktonica* составили 6.7%, что соответствует межвидовому генетическому порогу [3, 4]. Кроме того, имелись различия в размерах, форме клеток и типе хлоропластов между *M. planktonica* и изученными штаммами. Если у *M. planktonica* клетки в основном имели цилиндрическую форму с закругленными концами и лишь иногда встречались шаровидные, то у штаммов ACSSI клетки были меньше (до 2.8 мкм) и имели, как правило, шаровидную или широкоовальную форму. Хлоропласт *M. planktonica* в зрелых клетках имел форму пристенной пластинки и при старении превращался в корытовидный, тогда как хлоропласт штаммов ACSSI был чашевидный и широкопопоясковидный. Образ жизни трех изученных изолятов также отличался. Все представители *M. planktonica*, видовой принадлежность которых не вызывает сомнений, являются свободноживущими пресноводными микроорганизмами. В то время как штаммы ACSSI являются факультативными эндосимбионтами и были обнаружены как в симбиотических ассоциациях с инфузориями, так и в составе свободноплавающего пресноводного фитопланктона. О том, что эти штаммы являются факультативными эндосимбионтами, свидетельствует тот факт, что они успешно растут на среде BG-11 без добавления витаминов и/или казаминовых кислот, в то время как облигатные эндосимбионты требуют указанных добавок [2, 5].

Обобщая все вышесказанное, сравнительный анализ морфологических, экологических и молекулярно-генетических характеристик штаммов ACSSI 346, 362 и 363 с аутентичным штаммом типового вида *M. planktonica* CCMP 2446 однозначно подтверждает самостоятельный независимый статус кандидата в новый вид рода *Meyerella*.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-60002.

Источники и литература

- 1) Fawley, M.W., Fawley, K.P., Owen, H.A. Diversity and ecology of small coccoid green algae from Lake Itasca, Minnesota, USA, including *Meyerella planktonica*, gen. et sp. nov. // *Phycologia*. 2005. №44. P. 35–48.
- 2) Fučíková, K., Lewis, P.O., Lewis, L.A. Widespread desert affiliation of trebouxiophycean algae (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) including discovery of three new desert genera // *Phycol. Res.* 2014. №62(4). P. 294–305.
- 3) Hoshina, R., Iwataki, M., Imamura, N. *Chlorella variabilis* and *Micractinium reisseri* sp. nov. (Chlorellaceae, Trebouxiophyceae): Redescription of the endosymbiotic green algae of *Paramecium bursaria* (Peniculia, Oligohymenophorea) in the 120th year // *Phycol. Res.* № 58(3). P. 188–210.
- 4) Hoshina, R., Tsukii, Y., Harumoto, T., Suzaki, T. Characterization of a green Stentor with symbiotic algae growing in an extremely oligotrophic environment and storing large amounts of starch granules in its cytoplasm // *Sci. Rep.* 2021. №11: 2865.
- 5) Lanzoni, O., Fokin, S.I., Lebedeva, N., Migunova, A., Petroni, G., Potekhin, A. (2016) Rare freshwater ciliate *Paramecium chlorelligerum* Kahl, 1935 and its macronuclear symbiotic bacterium *Holospora parva* // *PLoS ONE*. 2016. №11(12): e0167928.